

УДК 579.238+576.3

ГОМОЛОГИ ТУБУЛИНА БАКТЕРИЙ И АРХЕЙ

© 2024 г. Н. А. Румянцева^a, Д. М. Голофеева^a, А. А. Хасанова^a, А. Д. Ведяйкин^a, *^aСанкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,

Санкт-Петербург, 195251, Россия

*e-mail: vedyajkin_ad@spbstu.ru

Поступила в редакцию 25.10.2023 г.

После исправления 28.11.2023 г.

Принята к опубликованию 05.12.2023 г.

Долгое время считали, что белки цитоскелета отсутствуют у прокариот и имеются только у эукариот, однако за последние 30 лет у бактерий и архей обнаружены гомологи основных белков цитоскелета, в том числе тубулина. Свойства гомологов тубулина, в том числе цитоскелет-подобные структуры, формируемые ими в клетках прокариот, варьируют и значительно отличаются от соответствующих свойств тубулинов эукариот, поэтому представляется интересным сравнить между собой прокариотические гомологи тубулина, что и стало целью данной обзорной работы. Рассматриваются такие гомологи тубулина, имеющиеся у бактерий и архей, как FtsZ, TubZ, PhuZ, BtubA/BtubB, CetZ и другие. Кроме того, в работе обсуждается, что разнообразные гомологи тубулина прокариот могут являться мишенью для фармацевтических препаратов, подобно белку FtsZ, который уже является мишенью для перспективных антибиотиков.

Ключевые слова: FtsZ, тубулин, CetZ, TubZ, PhuZ, BtubA, BtubB, цитоскелет

DOI: 10.31857/S0026365624030015

ВВЕДЕНИЕ

Тубулины — хорошо известные белки цитоскелета эукариот. Они имеют размер около 50 кДа и полимеризуются с образованием микротрубочек. Микротрубочки вовлечены в ключевые клеточные процессы, такие как цитокинез, внутриклеточный транспорт и подвижность клетки, и являются мишенью для многих противораковых препаратов (Binarová, Tuszyński, 2019; Cheng et al., 2020). Среди тубулинов выделяют шесть основных типов, которые могут одновременно присутствовать в одном организме, главным образом это α -, β -, γ -, δ -, ϵ - и ζ -тубулины (Findeisen et al., 2014). Среди основных типов выделяют разновидности, например, тубулины $\beta 1$, $\beta 2$ и $\beta 3$ (Janke, Magiera, 2020). Различные типы тубулина выполняют различные функции, например, α - и β -тубулины образуют гетеродимер и являются основой микротрубочек, γ -тубулин выполняет роль затравки при формировании микротрубочек, а δ -, ϵ - и ζ -тубулины участвуют в образовании центриолей (Findeisen et al., 2014).

Как уже было отмечено, ключевой структурой для тубулинов является микротрубочка, которая в основном состоит из α - и β -тубулинов (Weisenberg, 1972). Тубулины α - и β - взаимодействуют между собой, соединяясь по принципу “голова к хвосту” и образуя гетеродимер. В процессе

формирования микротрубочек димеры α - и β -тубулина связываются с гуанозинтрифосфатом (ГТФ) и способны соединяться с другими димерами (полимеризоваться) с образованием линейных филаментов, при этом на одном конце (“+” конец) находится β -тубулин, а на другом (“–” конец) — α -тубулин. Димеры тубулина преимущественно присоединяются к “+” концу филамента, хотя присоединение к “–” концу также происходит (Walker et al., 1988). Линейные филаменты тубулина, благодаря боковым (латеральным) связям, объединяются с образованием полой структуры — микротрубочки. Наиболее часто встречаются микротрубочки, состоящие из 13 филаментов, хотя возможны и другие варианты (Chrétien et al., 1992; Chaaban, Brouhard, 2017). Молекула ГТФ, связанная с субъединицей β -тубулина, в конечном итоге гидролизует до гуанозиндифосфата (ГДФ). При этом молекула ГТФ, связанная с субъединицей α -тубулина, не гидролизует. Связывание β -тубулина в составе димера тубулина с ГТФ или ГДФ определяет стабильность димера в микротрубочках. Димеры, связанные с ГТФ, имеют тенденцию собираться в микротрубочки, тогда как димеры, связанные с ГДФ, имеют тенденцию распадаться; таким образом, цикл гидролиза ГТФ во многом определяет свойства микротрубочек и, в частности, крайне важен для динамической нестабильности

микротрубочек (Walker et al., 1988). Присоединение и отсоединение димеров тубулина всегда происходит только начиная с конца микротрубочки, поэтому состояние β -тубулинов на конце микротрубочки, а именно то, связаны ли они с ГТФ или ГДФ, определяет, будет ли происходить разборка микротрубочки, даже если остальные β -тубулины уже гидролизуют ГТФ. Это и обуславливает динамическую нестабильность. Кроме того, баланс между ростом и разборкой микротрубочки определяется текущей концентрацией димеров тубулина: если она превышает критическую концентрацию, происходит рост микротрубочки, если она меньше — происходит ее разборка.

Важнейшей функцией микротрубочек является транспортная, она выражается в перемещении отдельных частей клетки, таких как органеллы. Для выполнения этой функции либо используется собственная способность микротрубочек развивать силу за счет удлинения или укорочения, либо привлекаются моторные белки, такие как кинезины и динеины (Gudimchuk, Alexandrova, 2023).

Долгое время тубулины, как и цитоскелет в целом, считались эксклюзивной принадлежностью эукариотических клеток, однако на сегодняшний день данное мнение признано ошибочным. У бактерий и архей обнаружены гомологи всех белков цитоскелета эукариот, в том числе тубулина (Cabeen, Jacobs-Wagner, 2010; Busiek, Margolin, 2015).

Данный обзор посвящен только гомологам тубулина, которые встречаются у бактерий и архей (включая их вирусы).

РАЗНООБРАЗИЕ ГОМОЛОГОВ ТУБУЛИНА

Среди прокариотических гомологов тубулина наиболее изучен белок FtsZ — именно он в 1991 г. стал первым открытым белком цитоскелета бактерий (Bi, Lutkenhaus, 1991). Предполагают, что именно FtsZ является наиболее древним представителем среди всех гомологов тубулина: вероятно, FtsZ имелся у общего предка бактерий и архей, и именно от FtsZ произошли все его гомологи, включая тубулины эукариот (см. рис. 1) (Santana-Molina et al., 2022).

Несмотря на ограниченное сходство аминокислотной последовательности, FtsZ демонстрирует значительное сходство трехмерной структуры с тубулином (см. рис. 2).

Как и тубулин, FtsZ полимеризуется с образованием линейных полимеров (впрочем, эти полимеры состоят из мономеров только одного вида), однако не образует структур, напоминающих микротрубочки. В зависимости от условий среды, FtsZ способен формировать пучки. Хорошо известно, что FtsZ формирует Z-кольцо, которое в *Escherichia coli* и нескольких других изученных бактериях выступает динамичным и неоднородным (состоящим

из неких кластеров, точная структура которых до сих пор неизвестна) каркасом для целого комплекса белков деления — так называемой дивисомы (Du, Lutkenhaus, 2019). В настоящее время считают, что основная роль FtsZ — направлять процесс перестройки клеточной стенки, согласуя его в пространстве и во времени с другими процессами, в том числе с сегрегацией ДНК. FtsZ имеется у большинства бактерий и архей, а также в некоторых органеллах эукариот — в хлоропластах растений и в митохондриях некоторых видов простейших (Santana-Molina et al., 2022).

Еще один бактериальный родственник тубулинов и FtsZ, называемый TubZ, имеется у некоторых видов бактерий и вовлечен в сегрегацию ДНК внутри бактериальной клетки. Белки TubZ кодируются несколькими крупными плазмидами *Bacillus* spp., включая плазмиду pXO1 *Bacillus anthracis*, и образуют в клетках нитевидные структуры, которые вытягиваются вдоль клетки. TubZ необходим для правильного распределения малокопийных плазмид между дочерними клетками. Считается, что полимеры TubZ посредством тредмиллинга в сочетании с ДНК-связывающими белками действуют как своеобразное примитивное веретено деления для плазмиды (Larsen et al., 2007). Интригующим представляется происхождение TubZ: предполагают, что он происходит от архейного, а не бактериального FtsZ (см. рис. 1) (Santana-Molina et al., 2022).

Еще один гомолог тубулина — PhuZ — имеется не у бактерий, а у некоторых гигантских бактериофагов. Белок PhuZ полимеризуется с образованием трехцепочечной нити, которая помогает позиционировать так называемое псевдодро посередине клетки, а также обеспечивает вращение псевдодро и транспорт прокапсидов от мембраны клетки к псевдодру (Chaikerasitak et al., 2021).

Интересные гомологи тубулинов обнаружены у представителей *Verrucomicrobia*, группы необычных бактерий, которые имеют некоторые общие характеристики с бактериями из филогенетических групп *Chlamydiae* и *Planctomycetes*, включая отсутствие FtsZ. *Verrucomicrobia*, такие как *Prostheco bacter*, содержат белки, называемые BtubA и BtubB, которые по аминокислотной последовательности более похожи на тубулин, чем на FtsZ. BtubA и BtubB образуют структуры, напоминающие микротрубочки эукариот и называемые “бактериальными микротрубочками”. Эти структуры имеют общие важные свойства со своими эукариотическими аналогами, такие как прямые протофиламенты и латеральные взаимодействия протофиламентов. Однако бактериальные микротрубочки состоят только из пяти протофиламентов вместо 13, типичных для эукариот (Pilhofer et al., 2011).

В археях также имеется несколько гомологов тубулинов. Наряду с FtsZ, у них имеются белки CetZ, FtsZ-подобные белки и другие, которые

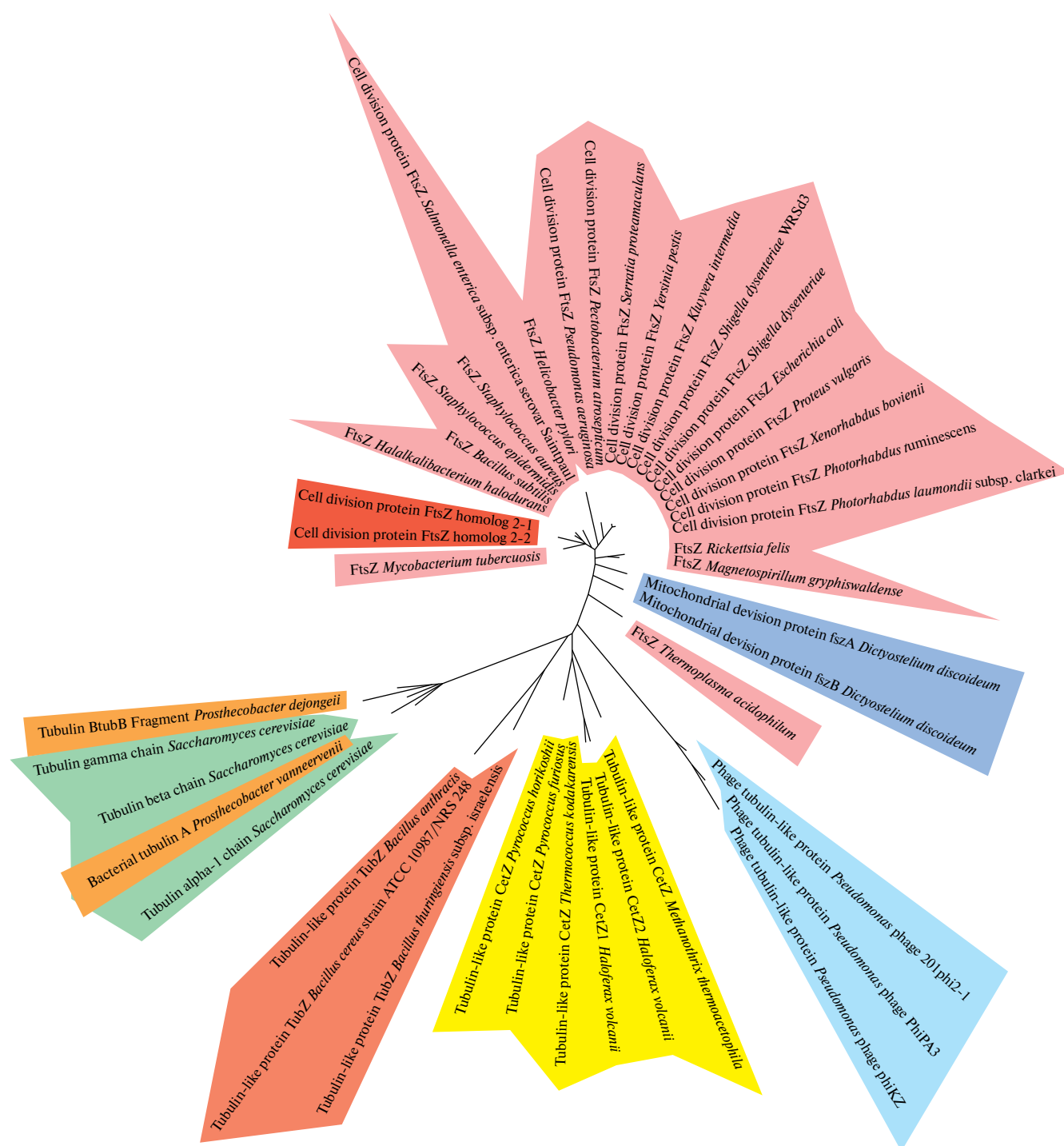


Рис. 1. Филогенетическое дерево бактериальных и архейных FtsZ (сиреневый цвет), FtsZ хлоропластов (темно-красный цвет, сверху слева), митохондриальных FtsZ (синий цвет), архейных CetZ (желтый цвет), TubZ (светло-красный цвет, внизу слева), VtubA и VtubB (оранжевый цвет) и дрожжевых тубулинов (светло-зеленый цвет), PhuZ (голубой цвет). Филогенетическое дерево было построено с помощью программного обеспечения IQ-TREE методом максимального правдоподобия и визуализировано с помощью iTOL.

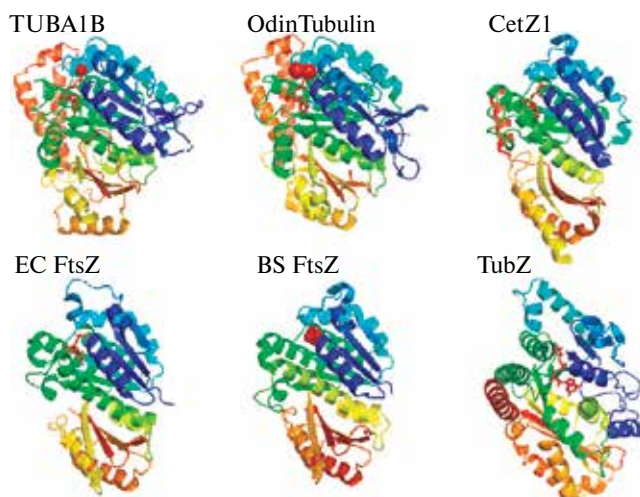


Рис. 2. Трехмерные структуры белков-гомологов тубулина в комплексе с нуклеотидом (ГТФ или ГДФ, обозначен красным). TUBA1B — α -тубулин человека типа 1B (идентификатор PDB: 7pfj); OdinTubulin — белок асгардархей OdinTubulin из *Candidatus Odinararchaeum yellowstonii* (идентификатор PDB: 7EVb); CetZ1 — белок CetZ1 архей *Haloferax volcanii* (идентификатор PDB: 4b46); EC FtsZ — белок FtsZ *E. coli* (идентификатор PDB: 6UNX); BS FtsZ — белок FtsZ *B. subtilis* (идентификатор PDB: 2vam); TubZ — белок TubZ *Bacillus thuringiensis* (идентификатор PDB: 3m89). Цветовая кодировка соответствует положению в аминокислотной последовательности: синий цвет — N-конец, красный — C-конец.

демонстрируют довольно высокое сходство со структурами FtsZ и тубулинов (Duggin et al., 2015). Интересно отметить, что роль CetZ связана не с делением клеток, а с поддержанием формы клетки (Duggin et al., 2015).

В последующих главах белки-гомологи тубулина бактерий и архей рассматриваются более подробно.

FtsZ — ЯДРО АППАРАТА ДЕЛЕНИЯ ПРОКАРИОТ

FtsZ стал первым среди открытых белков цитоскелета прокариот. Задолго до этого в геноме *E. coli* был картирован локус, содержащий гены, мутации в которых приводили к температурной чувствительности бактерий: выше перmissive температуры клетки бактерий не делились, а удлинялись, превращаясь в так называемые филаменты (отсюда происходит название многих генов этого локуса, в том числе *ftsZ* — от англ. filamenting temperature sensitive Z) (Van De Putte et al., 1964; de Boer, 2016). В 1991 году при помощи иммуноэлектронной микроскопии было показано, что белок FtsZ формирует кольцевую структуру посередине клеток *E. coli* — то есть в плоскости деления клетки (Bi, Lutkenhaus, 1991). Вскоре наличие этой структуры было подтверждено при помощи флуоресцентной

микроскопии в *E. coli* и *Bacillus subtilis* (Harry et al., 1995; Addinall et al., 1996). Было показано, что FtsZ является ГТФазой и способен формировать полимеры в условиях *in vitro* (de Boer et al., 1992; Bramhill, Thompson, 1994). Свойства FtsZ явно указывали на сходство его с тубулином, что и было подтверждено после получения его кристаллической структуры.

Кристаллическая структура FtsZ

В 1998 году была впервые опубликована кристаллическая структура FtsZ из архей *Methanocaldococcus jannaschii* (далее MjFtsZ), включающая два основных домена белка, в частности, N-концевой ГТФ-связывающий домен и C-концевой домен, что показало высокое сходство трехмерной структуры FtsZ с эукариотическим белком цитоскелета тубулином (Löwe, 1998). Как в тубулине, так и в FtsZ N-концевой домен состоит из шести β -листов, расположенных параллельно и окруженных α -спиралями H1–H6. На рис. 2 представлена структура α -тубулина, а также 2 структуры белков FtsZ *E. coli* и *B. subtilis*; структура MjFtsZ не показана на рисунке, однако она имеет высокое сходство со структурами указанных белков FtsZ, за исключением нескольких отличий. В частности, MjFtsZ несет дополнительную α -спираль H0 на N-конце, которая отсутствует в тубулине и белках FtsZ других описанных организмов. Кроме спирали H0, MjFtsZ дополнительно имеет длинный (около 30 аминокислот) N-концевой фрагмент, выступающий за пределы глобулы. Данный фрагмент значительно короче у других бактерий, таких как *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *B. subtilis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и *Mycobacterium tuberculosis* (Silber et al., 2020). C-концевой домен FtsZ состоит из четырех параллельно расположенных β -листов (S7–S10), которые окружены α -спиралями H8–H10; он соединен с N-концевым доменом через центральную α -спираль H7, при этом между двумя доменами имеется так называемая междоменная щель (англ. interdomain cleft). Тубулин по сравнению с FtsZ несет две дополнительные длинные α -спирали на C-конце (H11 + H12), в то время как FtsZ имеет структуру в виде двух β -листов (S11 + S12) в этом положении.

Сравнивая структуру различных гомологов тубулина (см. рис. 2), можно сделать вывод о том, что N-концевой домен намного более консервативен, чем C-концевой, что справедливо как среди ортологов одного типа белка (например, FtsZ), так и среди различных типов белков. Например, в 2020 году при сравнении трехмерных структур белков FtsZ у 20 микобактерий выявили, что N-концевой домен высоко консервативен во всех микобактериях, в то время как C-концевой домен вариабелен, в особенности на участке 340–380 аминокислот (Hong et al., 2013).

Полимеры FtsZ и Z-кольцо

Все известные функции FtsZ выполняются в его полимерной форме (например, в Z-кольце). Как тубулин и все его гомологи, FtsZ может гидролизовать ГТФ только в полимерной форме, поскольку каталитический карман образуется на границе раздела между двумя соседними мономерами FtsZ (Oliva et al., 2004). Основные каталитические остатки входят в состав петли T7 и спирали H8 субъединицы FtsZ над поверхностью раздела между двумя мономерами. После того как мономер FtsZ гидролизует связанный ГТФ, он сохраняет ГДФ до тех пор, пока не отделится от протофиламента и не сможет обменять ГДФ на ГТФ. Гидролиз ГТФ каждой молекулой FtsZ не зависит от гидролиза в других субъединицах протофиламента. Протофиламенты содержат смесь субъединиц, связанных с ГДФ и ГТФ. Поскольку присоединение происходит преимущественно с одного конца протофиламента (Du et al., 2018), этот случайный процесс создает градиент, состоящий в основном из субъединиц, связанных с ГТФ, на одном конце протофиламента, и в основном из субъединиц, связанных с ГДФ, на другом конце протофиламента (Corbin, Erickson, 2020). По-видимому,

именно это свойство протофиламентов FtsZ является основой для тредмиллинга (см. ниже).

Основная роль белка FtsZ связана с клеточным делением (Haeusser, Margolin, 2016; Du, Lutkenhaus, 2019; Vedyaykin et al., 2019). В отличие от тубулина, FtsZ не формирует микротрубочки; при этом боковые (или латеральные) взаимодействия между протофиламентами FtsZ способствуют образованию пучков и других структур, таких как спирали. Кроме того, взаимодействующие между собой протофиламенты FtsZ формируют Z-кольцо — главную структуру, формируемую в клетке белком FtsZ (McQuillen, Xiao, 2020).

Структуры полимеров FtsZ в составе Z-кольца в клетках были исследованы несколькими способами. Традиционная флуоресцентная микроскопия и иммуноэлектронная микроскопия не позволяют в деталях визуализировать Z-кольцо, поэтому долгое время предполагали, что Z-кольцо может быть однородной и даже замкнутой структурой (Erickson et al., 2010). Действительно, при визуализации методом криоэлектронной томографии *in vivo* в нескольких работах было показано, что нити FtsZ в клетке имеют ширину приблизительно 5.7 нм, соответствующую ширине одиночного мономера,

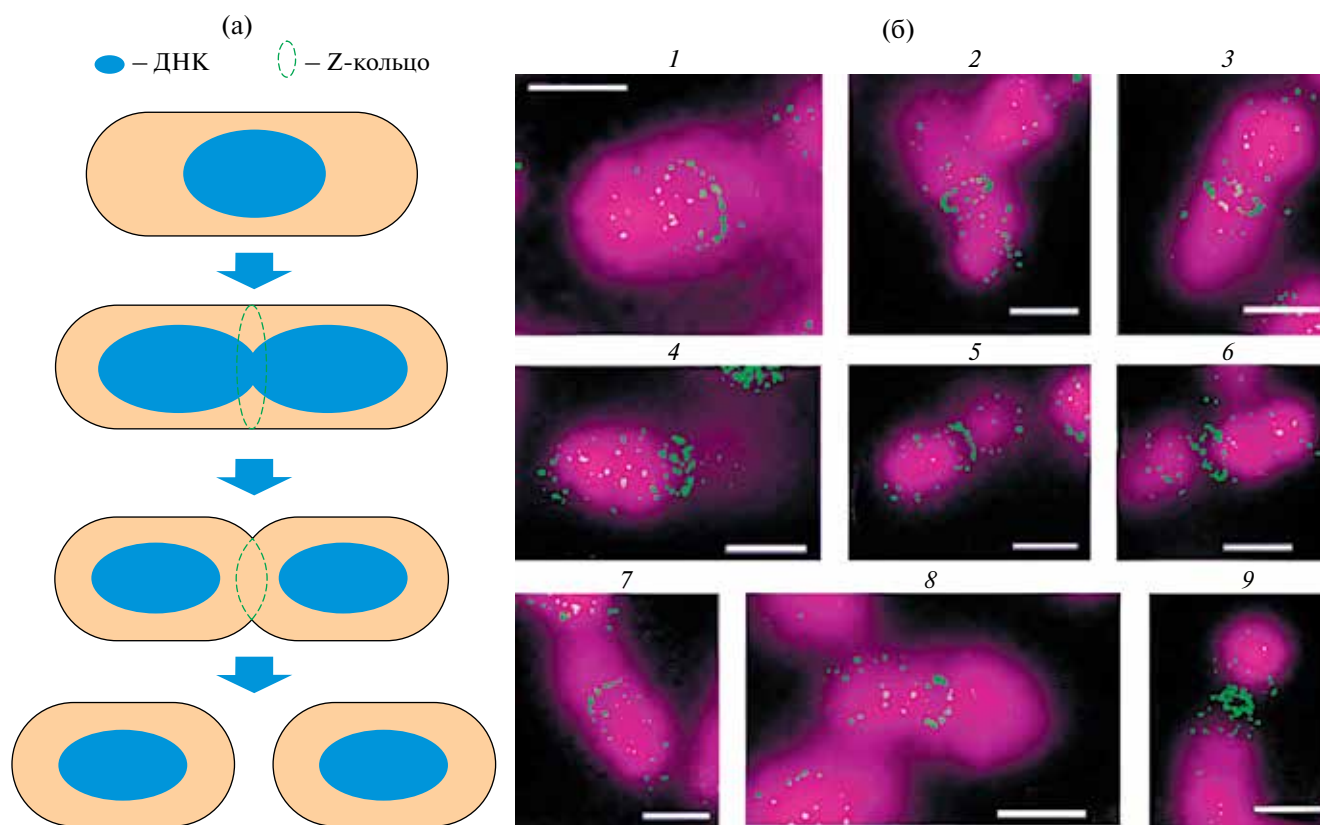


Рис. 3. Роль белка FtsZ в делении бактериальной клетки. Слева — схема бинарного деления бактерий: после репликации ДНК (синие овалы) посередине клетки образуется Z-кольцо (зеленая линия), которое в процессе деления постепенно сужается. Справа — визуализация Z-кольца во время цитокинеза при помощи сверхразрешающей микроскопии; микрофотографии, обозначенные цифрами от 1 до 9, упорядочены приблизительно в порядке сокращения Z-кольца. Фиолетовым отмечена ДНК, зеленым — FtsZ (цитировано по Vedyaykin et al., 2016).

длину ~100 нм и находятся на расстоянии ≈ 16 нм от мембраны, которое обеспечивают мембранные белки FtsA и ZipA (Szwedziak et al., 2014; Yao et al., 2017), при этом Z-кольцо представляет собой относительно однородную структуру, хотя в одной из работ была продемонстрирована менее однородная структура Z-кольца (Li et al., 2007). Визуализация Z-колец при помощи сверхразрешающей световой микроскопии (см. рис. 3), напротив, свидетельствует о том, что Z-кольцо является прерывистой структурой, которая состоит из характерных кластеров размерами 50–100 нм и простирается радиально вглубь клетки примерно на 50–100 нм (Fu et al., 2010; Holden et al., 2014; Vedyaykin et al., 2016; Mahone, Goley, 2020). В настоящее время больше склоняются к тому, что Z-кольцо является неоднородной структурой (Mahone, Goley, 2020). Тем не менее, несмотря на активное изучение, точная структура Z-кольца пока не выяснена.

Основная роль Z-кольца — это формирование каркаса для других белков дивисомы (комплекса белков деления). FtsZ направляет активность других белков деления (в особенности, вовлеченных в перестройку клеточной стенки). Тем не менее имеются аргументы в пользу существования дополнительной функции у белка FtsZ — сократительной (т.е. способности деформировать мембрану). На основании данных, полученных в экспериментах *in vitro* с искусственными мембранными пузырьками (липосомами), предполагают, что белок FtsZ оказывает достаточную по величине силу для деформации цитоплазматической мембраны как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий (Osawa, Erickson, 2018). Однако продемонстрированная способность FtsZ деформировать мембрану не является достаточным аргументом для вывода о том, что данное свойство важно в процессе деления, в том числе потому, что, кроме мембраны, оболочка бактерий, как правило, содержит клеточную стенку, деформировать которую FtsZ не в состоянии. Кроме того, на основании экспериментов по длительному наблюдению за дивисомой в клетке при помощи современных методов световой микроскопии известно, что FtsZ диссоциирует из сайта деления, прежде чем окончательно сформируется перегородка между дочерними клетками. Следовательно, как минимум на последнем этапе формирования септы FtsZ не генерирует сократительную силу (Soderstrom et al., 2014). Несмотря на сомнения в значимости сократительной функции белка FtsZ, данный вопрос пока не закрыт и требует дополнительного изучения. Можно предположить, что сократительная функция FtsZ более важна для бактерий, не имеющих клеточной стенки, например, для молликут (часто собираемых называемых микоплазмами), так как единственной оболочкой таких бактерий является цитоплазматическая мембрана, которая может быть деформирована полимерами FtsZ (Vedyaykin et al., 2019).

За последние 5 лет было выяснено, что важным свойством белка FtsZ (и его гомологов среди бактерий и архей, что обсуждается в последующих главах) является тредмиллинг, который характерен и для тубулина (Margolis, Wilson, 1998; Corbin, Erickson, 2020). Тредмиллинг — это направленное движение полимера путем непрерывной полимеризации на одном конце полимера одновременно с деполимеризацией на противоположном конце, в то время как отдельные мономеры в полимере остаются неподвижными. Как у *E. coli*, так и у *B. subtilis* было обнаружено, что кластеры FtsZ в Z-кольце демонстрируют направленное движение со скоростью приблизительно 25–30 нм/с вдоль окружности Z-кольца. Это направленное движение не зависит от активности синтеза клеточной стенки, регуляторов сборки Z-кольца и его стабилизаторов, но тесно связано с ГТФазной активностью FtsZ (McQuillen, Xiao, 2020).

Роль тредмиллинга в процессе деления до сих пор до конца неизвестна. Тем не менее исследование динамики FtsZ в процессе цитокинеза позволили сделать вывод, что тредмиллинг, вероятно, выполняет две функции: во-первых, тредмиллинг, вместе с латеральными взаимодействиями протофиламентов, обеспечивает упаковку отдельных полимеров FtsZ в более плотную структуру Z-кольца, инициируя процесс сборки зрелой дивисомы, во-вторых, тредмиллинг перемещает другие компоненты дивисомы, управляя, таким образом, работой других белков деления, в том числе обеспечивающих ремоделирование клеточной стенки (Bisson-Filho et al., 2017; McCausland et al., 2021; Whitley et al., 2021).

Связь FtsZ с другими белками деления

Для осуществления клеточного деления в состав дивисомы привлекается множество других белков, которые взаимодействуют с FtsZ, прикрепляя Z-кольцо к мембране, и выполняют другие функции. Идентифицировано в общей сложности более 35 белков, участвующих в клеточном делении *E. coli* (Du, Lutkenhaus, 2017). Как показано для двух модельных организмов, *B. subtilis* и *E. coli*, сборка дивисомы может быть разделена на две последовательные стадии. На первой стадии с участием ранних белков клеточного деления на внутренней стороне цитоплазматической мембраны образуется Z-кольцо. Эти белки важны для связывания полимеров FtsZ с мембраной или выполняют другие регуляторные функции во время созревания Z-кольца. Ранние белки включают гомолог тубулина FtsZ и его мембранные якоря FtsA и ZipA, которые образуют так называемое прото-кольцо вместе с несколькими белками, ассоциированными с Z-кольцом (ZapA-G). На второй стадии поздние белки клеточного деления, включая ферменты, вовлеченные в синтез пептидогликана, привлекаются в место будущего деления, что обеспечивает синтез

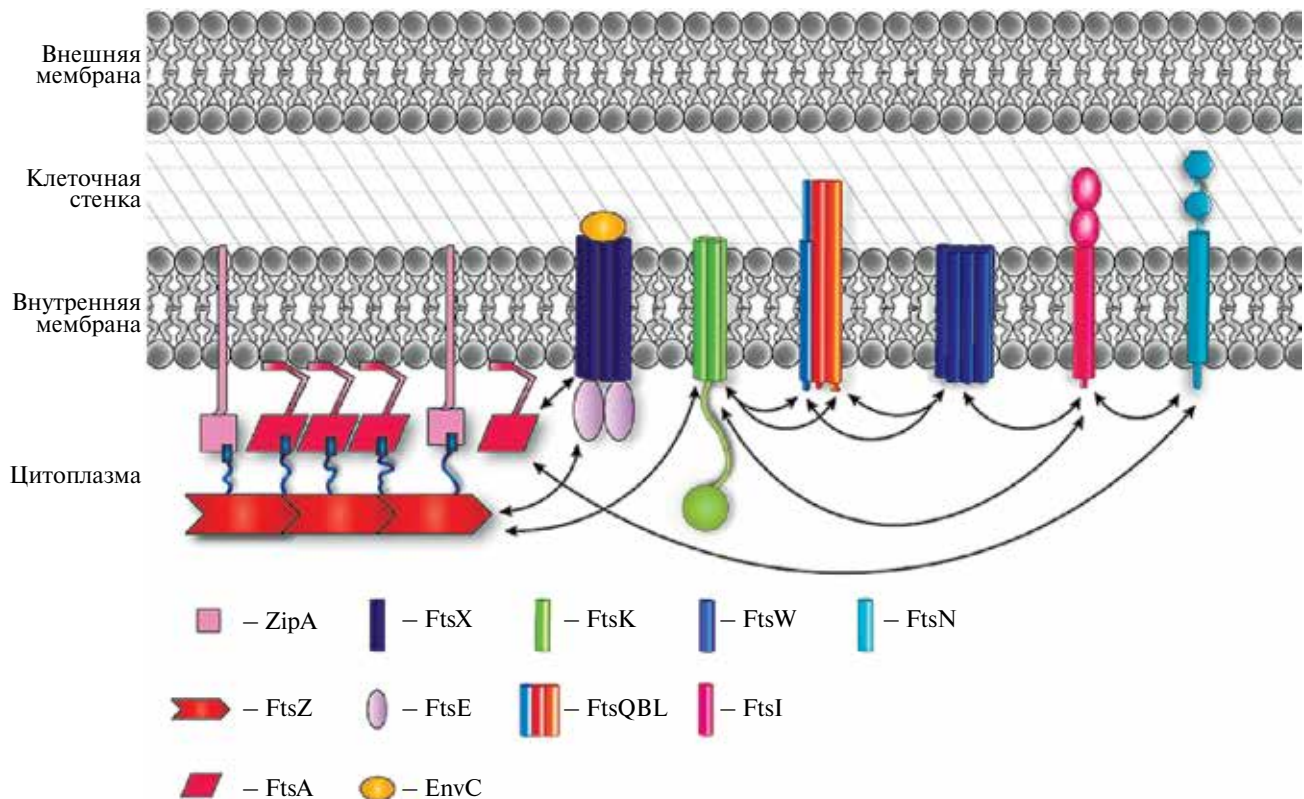


Рис. 4. Состав бактериальной дивисомы на примере *E. coli*. В верхней части указана локализация основных белков дивисомы относительно мембран и клеточной стенки, а также друг относительно друга. Межбелковые взаимодействия отражены контактом белков (например, между FtsE и FtsX), а также стрелками (цитировано по Vedyaykin et al., 2019).

септального пептидогликана и, наконец, цитокинез. Белковый комплекс ABC-транспортер FtsEX следует за ранними белками и, вероятно, участвует в дальнейшей сборке дивисомы. К поздним белкам относятся ДНК-транслоказа FtsK, а также FtsQ, FtsBL, FtsWI и FtsN и другие белки (Attaibi, den Blaauwen, 2022). Основные белки дивисомы *E. coli* изображены на рис. 4.

Распространенность FtsZ

У бактерий и архей имеется несколько видов белков FtsZ. У большинства бактерий имеется только один белок FtsZ, хотя существуют и бактерии, у которых отсутствует FtsZ, и которые осуществляют клеточное деление иначе, например, представители *Chlamydia* (Ouellette et al., 2020). У большинства архей имеются два белка FtsZ — FtsZ1 и FtsZ2, в то же время есть археи с одним белком FtsZ, аналогично бактериям, что обсуждается далее в главе про архейные гомологи тубулина.

Интересно отметить, что кроме бактерий и архей, белки FtsZ имеются также в некоторых органеллах эукариотических клеток, что согласуется с гипотезой об их бактериальном происхождении. Одно из таких семейств, присутствующее во всех пластидах растительного царства и необходимое для деления, вероятно, произошло от FtsZ цианобактерий (см. рис. 1).

Хлоропластам модельного растения *Arabidopsis thaliana* для деления требуются два гомолога FtsZ: FtsZ1 и FtsZ2 объединяются и, подобно бактериальным и архейным FtsZ, образуют кольцо посередине пластиды (TerBush et al., 2013). Пониженная экспрессия белков FtsZ может быть ответственна за нарушение развития и деления хлоропластов растений, что приводит к образованию мутантов-альбиносов (Xie et al., 2023). Хотя митохондрии большинства эукариот не зависят от FtsZ, у некоторых простейших, включая *Dictyostelium discoideum*, есть гомологи FtsZ, которые участвуют в делении этих органелл. Подобно FtsZ хлоропластов, митохондриальные FtsZ кодируются ядром хозяина и наиболее похожи на FtsZ альфапротеобактерий, которые считаются их предшественниками (Kiefel et al., 2004).

BtubA/BtubB, TubZ И ДРУГИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ГОМОЛОГИ ТУБУЛИНА

Белки BtubA/BtubB

Структуры, напоминающие микротрубочки в клетках эукариот, были найдены и в некоторых штаммах бактерий рода *Prostheco bacter*. Бактериальные микротрубочки формируются из протофиламентов белков BtubA и BtubB. Эти белки

являются более близкими гомологами эукариотических тубулинов, чем любой другой бактериальный белок. Последовательности генов *btubA* и *btubB* *Prostheobacter dejongei* на 35% идентичны последовательностям α - и β -тубулина (Jenkins et al., 2002). Строение бактериальных микротрубочек схоже со строением микротрубочек эукариот. Однако бактериальные микротрубочки меньше в диаметре в силу того, что они состоят не из тринадцати, а из пяти взаимодействующих протофиламентов, что было показано методом криоэлектронной томографии (Pilhofer et al., 2011).

Было показано, что *BtubA* и *BtubB* способны полимеризоваться в присутствии ГТФ и магния, образуя гетероолигомеры. Полученные структуры *BtubA/BtubB* также демонстрируют высокую гомологию со структурами тубулинов. Наблюдаемые отличия обусловлены, преимущественно, разными конформациями. В отличие от *FtsZ*, в структуре *BtubA* и *BtubB* присутствуют некоторые элементы, свойственные тубулинам, например, М-петля, участвующая в формировании микротрубочек, петля Н1-S2 (Schlieper et al., 2005). Такое сходство *BtubA* и *BtubB* с тубулинами предположительно может объясняться горизонтальным переносом генов тубулина от примитивных эукариот или архей к бактериям (Martin-Galiano et al., 2011). В литературе описаны методы очистки бактериального тубулина *BtubA/BtubB* и рекомбинантных белков, содержащих последовательности эукариотического тубулина, также описаны методы анализа их полимеризации (Andreu, Oliva, 2013). Было показано, что процесс полимеризации происходит лучше при низких концентрациях ионов калия, оптимум концентрации KCl в растворе составляет 50 мМ. Методом конфокальной флуоресцентной микроскопии была показана динамика полимеров в присутствии ГТФ, включая тредмиллинг и стохастическое переключение между сборкой и быстрой разборкой бактериальных микротрубочек (Díaz-Celis et al., 2017).

Когда очищенные *BtubA/BtubB* находятся внутри липосом, они организуются в различные цитоскелет-подобные структуры. Более того, бактериальные микротрубочки могут формировать сократительную силу и изменять форму липосом, подобно полимерам *FtsZ*. В контексте создания синтетической клетки, бактериальные микротрубочки могут помочь формировать липидные компартменты, обеспечивать полярность или направленный транспорт, а также участвовать в процессе деления (Kattan et al., 2021). Функция белков *BtubA/BtubB* в бактериальных клетках до сих пор остается неизвестной.

Белок *FtsZm*

В отличие от многих других бактерий, *Magnetospirillum gryphiswaldense* имеет два гомолога *FtsZ*: канонический *FtsZ*, управляющий процессом

деления в данных клетках, а также вариант с усеченным С-концом, названный *FtsZm*. Подобно основному белку *FtsZ*, его паралог *FtsZm* также обладает ГТФазной активностью и может образовывать гомо- и гетерополимеры с *FtsZ* в условиях *in vitro*. Бактерии *M. gryphiswaldense* интересны тем, что обладают внутриклеточной цепью окруженных мембраной кристаллов магнетита — магнетосом. Ген *ftsZm* расположен внутри оперона, контролирующего формирование магнетосом. Это заставляет предполагать, что *FtsZm*, по-видимому, не участвует в процессе деления клетки, а играет роль в биоминерализации магнетосом (Toro-Nahuelpan et al., 2019). Было показано, что удаление гена *ftsZm* приводит к образованию суперпарамагнитных кристаллов магнетита малого размера и чешуйчатой формы. При этом форма и размер кристаллов восстанавливаются с добавлением нитрата в питательную среду. Нарушение формирования магнетосом в отсутствие нитрата указывает на функциональную связь *FtsZm* с денитрификацией и окислительно-восстановительным контролем магнетосомного железа. Белок может выполнять функцию тонкой настройки соотношения $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ в магнетосомах в изменяющихся условиях окружающей среды. Данная функция, видимо, обеспечивается через прямое или косвенное взаимодействие *FtsZm* с окислительно-восстановительными белковыми комплексами. Флуоресцентная микроскопия показала, что *FtsZm* ко-локализуется с *FtsZ* в клетке. При наработке в клетках *E. coli* оба гомолога *FtsZ* образуют отдельные структуры, которые также ко-локализуются. Все это указывает на то, что *FtsZ* рекрутирует *FtsZm*. В экспериментах *in vitro* было показано, что *FtsZm* способен взаимодействовать с белком *FtsZ* (Müller et al., 2014). Цепь магнетосом располагается посередине клетки, при этом в процессе цитокинеза цепь расщепляется и распределяется по дочерним клеткам. После цитокинеза дочерние цепи магнетосом вновь позиционируются в середине клетки. Взаимодействие *FtsZ* и *FtsZm*, вероятно, обеспечивает согласованность процесса деления клетки с образованием и расщеплением цепи магнетосом.

Белок *TubZ*

Известно, что малокопийные плазмиды используют специализированные системы сегрегации, которые помогают поддерживать плазмиду в клетке. Эти системы состоят из моторного белка, формирующего филаменты, адаптерного белка, а также центрального региона на плазмидной ДНК. В зависимости от типа моторного белка системы сегрегации могут быть классифицированы следующим образом: системы типа I используют АТФазы типа *ParA*, которые, в сочетании с адаптерным белком *ParB*, обеспечивают сегрегацию по механизму броуновского хаптовика (Mishra, Srinivasan, 2022); системы типа II используют

актиноподобные филаменты, которые перемещают плазмиды к полюсам клетки перед делением, а системы типа III представляют собой семейство ГТФаз, родственных тубулину, названных TubZ. Белки TubZ были обнаружены на больших вирусных плаزمиде бактерий класса *Bacilli* (например, плазмиды *Bacillus thuringiensis* pBtoxis, *Bacillus anthracis* pXO1, *Bacillus sphaericus* pBsph и *Bacillus cereus* pBc23). Горизонтальный перенос генов *tubZ* и их отсутствие у филогенетически промежуточных видов усложняет исследование вопроса о происхождении семейства TubZ. Однако маловероятно, что TubZ имел эукариотическое происхождение, учитывая существенные отличия структуры самих белков и его филаментов от эукариотических тубулинов. При этом TubZ не так значительно отличается по своей последовательности и структуре от архейного CetZ, что позволяет предположить, что TubZ произошел именно от архейных гомологов тубулина (Fink, Aylett, 2017).

Известны кристаллические структуры TubZ *B. thuringiensis* и *B. cereus* (Ni et al., 2010; Hoshino, Hayashi, 2012). Сравнение этих структур между собой показывает, что аминокислотные остатки, участвующие в гидролизе ГТФ, не являются строго консервативными, однако в целом TubZ из разных видов бактерий демонстрирует схожую структуру. Важной особенностью TubZ является С-концевой фрагмент, который играет критическую роль как в стабилизации структуры TubZ, так и во взаимодействии с ДНК-связывающим белком TubR. В процессе сегрегации репликонов по механизму III типа адаптерный белок TubR связывается с центромальной последовательностью *tubC*, рекрутирует TubZ и стабилизирует его филаменты, при этом тредмиллинг филаментов TubZ способствует разделению ДНК (Mishra, Srinivasan, 2022). Также известна структура TubZ бактериофага c-st *Clostridium botulinum* (Oliva et al., 2012). В данном случае TubZ участвует в сегрегации профага, который сохраняется в виде плазмиды внутри клетки-хозяина. Стоит отметить, что структура данного белка более значительно отличается от предыдущих. Например, в ней отсутствует N-концевая α -спираль H0, располагающаяся в гидрофобном ядре белка между ГТФазным и активационным доменами. Данное различие фаговых и бактериальных структур TubZ, видимо, увеличивает специфичность этих систем сегрегации, так как при наличии нескольких внехромосомных элементов в одном организме может возникнуть конкуренция между системами сегрегации за счет неспецифических межбелковых и взаимодействий белок–ДНК.

TubZ демонстрируют более высокую степень структурной гомологии с FtsZ, чем с эукариотическими тубулинами. Например, N-концевая спираль H0 не является консервативной среди TubZ, то же наблюдается и в структурах FtsZ, как уже

было отмечено выше. Еще одной структурной общностью с FtsZ является отсутствие в TubZ структур, соответствующих тубулиновым M- и N-петлям, которые участвуют в латеральных взаимодействиях между протофиламентами. Видимо, данные структурные различия служат причиной тому, что филаменты, образуемые TubZ и FtsZ, обладают более простой структурой.

TubZ образует филаменты, которые перемещаются внутри клеток за счет тредмиллинга (Kim, 2019). При помощи флуоресцентной микроскопии с использованием зеленого флуоресцентного белка (GFP) удалось отследить динамику филаментов TubZ::GFP в клетках *B. thuringiensis*. Так было показано, что полимеры TubZ::GFP перемещаются вдоль всей клетки, изгибаясь при необходимости для перемещения вокруг полюса клетки и продолжая движение в обратном направлении (Larsen et al., 2007). Разбирающийся конец филамента связывается с комплексом TubRC. При этом из-за упомянутой выше стабилизации структуры за счет взаимодействия с TubR, разборка происходит только строго на конце филамента. Методом просвечивающей электронной микроскопии было показано, что филаменты очищенного белка TubZ *B. thuringiensis* и *C. botulinum* *in vitro* формируют четырехцепочечную спиральную структуру в присутствии ГТФ и ионов магния. В отличие от мономеров тубулина, мономеры TubZ должны приобретать скрученную конформацию в процессе полимеризации, чтобы формировать спиральную нить. Связывание молекулы ГТФ мономером и дальнейшая полимеризация индуцируют поворот N- и С-концевых доменов TubZ относительно друг друга; таким образом, происходит постепенное скручивание филамента. С-концевой фрагмент, связываясь со следующим мономером, управляет данными конформационными изменениями и обеспечивает правильное положение мономеров в спирали. В процессе сборки полимера каталитическая петля, таким образом, приближается к γ -фосфату в сайте связывания ГТФ, после чего может произойти гидролиз ГТФ. Вследствие гидролиза ГТФ происходит конформационное изменение, запускающее деполимеризацию (Fuentes-Pérez et al., 2017).

Белок PhuZ

Не только бактерии, но и бактериофаги используют белки-гомологи тубулина. Анализ баз данных геномных последовательностей фагов позволил найти фаговый гомолог тубулина, получивший название PhuZ. PhuZ является, в частности, продуктом гена *gp59* гигантского бактериофага *Pseudomonas chlororaphis* 201Ф2–1. Было показано, что PhuZ образует динамические филаменты, которые позиционируют фаговое псевдоядро в центре клетки во время литического цикла. PhuZ также присутствует в геномах фагов *P. aeruginosa* ФКЗ,

ФРАЗ, KTN4, EL, и SL2, а также некоторых фагов, инфицирующих *Erwinia amylovora* и представителей родов *Vibrio* и *Bacillus* (Guan, Bondy-Denomy, 2020). Филаменты PhuZ формируют в клетке биполярное веретено — структуру из нитей PhuZ, исходящих из полюсов клетки к псевдоядру. При этом данная структура за счет тредмиллинга осуществляет позиционирование и вращение псевдоядра. Было показано, что нитям PhuZ свойственна структура не только биполярного веретена: фag Goslar из *E. coli* собирает фagовое псевдодро, окруженное своеобразным вихрем из филаментов PhuZ (Birkholz et al., 2022), при этом данные филаменты менее упорядочены, чем в случае образования веретена PhuZ. Для некоторых видов фагов известно, что фagовые капсиды собираются на мембране и передвигаются по филаментам PhuZ к ядру (Prichard et al., 2023).

Белки PhuZ являются близкими гомологами TubZ, что подтверждается наличием общих консервативных элементов в структурах TubZ и PhuZ. Полученные структуры PhuZ бактериофагов 210Ф2–1 и ФКЗ демонстрируют одинаковые особенности конформации. Для PhuZ 210Ф2–1, в отличие от других известных структур TubZ и PhuZ, удалось разрешить структуру С-концевого домена, который в данном случае упорядочен в полимере относительно соседнего мономера (Fink, Aylett, 2017). Наиболее изученные к настоящему времени представители семейства PhuZ образуют динамическую структуру, представляющую собой трехцепочечный филамент. Процесс сборки филамента предположительно происходит по следующему механизму: ГТФ-связанные мономеры PhuZ будут связываться посредством взаимодействий между С-концевым хвостом одного мономера и связывающим карманом следующего мономера. Таким образом, формируются продольные димеры, три таких димера далее латерально связываются, происходит дальнейшая реорганизация С-концов для обеспечения контактов филаментов внутри гексамерного ядра (Zehr et al., 2014). Очевидно, что как минимум для некоторых видов белков PhuZ С-конец играет роль, не характерную для других тубулинов.

АРХЕЙНЫЕ ГОМОЛОГИ ТУБУЛИНА

Большинство архей имеют один или два гомолога FtsZ, которые выполняют функции, близкие к таковым у FtsZ бактерий, и обеспечивают формирование Z-кольца (Aylett, Duggin, 2017). При этом существует большая группа представителей *Crenarchaeota*, у которой не найдены близкие гомологи тубулина, и которая использует для клеточного деления механизм, основанный на ESCRT-III (CdvB) (Aylett, Duggin, 2017). Ключевыми комплексами эукариотической системы ESCRT (Endosomal Sorting Complex Required for Transport) являются ESCRT-III и Vps4 (CdvC у архей). Исследования показали, что данная система участвует

в процессах, связанных с инвагинацией и разрывом мембраны (например, во время выхода вируса из клетки), а также важна на финальной стадии деления Metazoa (Caspi, Dekker, 2018). Белки архей Cdv выполняют отличную от эукариотической системы ESCRT роль, хоть и являются гомологами, и их главные функции в процессе деления могут быть связаны с избыточной инвагинацией мембраны и синтезом клеточной стенки. Архейные белки-гомологи тубулина и FtsZ были изначально идентифицированы по связыванию с ГТФ (Baumann, Jackson, 1996). Сравнительный анализ показал, что данные гомологи FtsZ более близки к бактериальному FtsZ, чем к эукариотическому тубулину (см. рис. 1). Таким образом, FtsZ может претендовать на роль практически универсального белка, отвечающего за процесс деления бактерий и архей (далее гомологи FtsZ архей рассмотрены подробнее). В работе 2004 года были проанализированы открытые базы данных для поиска FtsZ и его гомологов (Vaughan et al., 2004). Авторы обнаружили гомологи FtsZ у всех классов (по классификации на момент публикации статьи) филума *Euryarchaeota* (в настоящий момент данный филум называется *Methanobacteriota*). Кроме того, авторы показали наличие у архей нескольких паралогов FtsZ, которые, вероятно, произошли из-за дупликации FtsZ. В геноме архей могут встречаться белки FtsZ (один FtsZ или пара FtsZ1 и FtsZ2), несколько видов CetZ белков, а также неканонические белки с неизвестными функциями (Aylett, Duggin, 2017).

Архейные гомологи FtsZ и FtsZ-подобные белки

Первым среди белков-гомологов тубулина архей был найден FtsZ. У архей, как уже было указано, их может быть два гомолога, может быть один, а может и вовсе не быть белков FtsZ. FtsZ1 *Halobacterium volcanii* обладает способностью к полимеризации и обладает ГТФазной активностью при концентрации KCl выше 2 М, причем NaCl не способен заменить ионы калия (Aylett, Duggin, 2017). FtsZ1 *H. volcanii* локализуется посередине клетки и образует кольцевую структуру, подобную таковой у бактерий. Кольцо посередине клетки обнаруживается у большинства архей в растущей культуре, что говорит о том, что оно сохраняется на протяжении всего цикла. Кроме того, Z-кольцо присутствует в клетках, еще не имеющих заметного сужения в области будущего сайта деления, что говорит о том, что Z-кольцо формируется задолго до образования перетяжки между дочерними клетками. Мутант FtsZ1 (D250A) с точечной заменой в области петли T7, которая нарушает работу ГТФазного домена, блокирует процесс деления. Клетки при этом продолжают расти, но не способны делиться, в итоге формируются клетки гигантского размера. Интересно, что дополнительная экспрессия FtsZ2 в *H. salinarum* не приводит к каким-либо

изменениям в делении или клеточной форме, тогда как сверхэкспрессия FtsZ в *E. coli* и других бактериях нарушает процесс деления (Aylett, Duggin, 2017).

Также у архей были найдены FtsZ-подобные белки (англ. FtsZ-like group 1, FtsZL1). Данные белки были обнаружены по консервативному ГТФ-связывающему домену (Makarova, Koonin, 2010). Известно небольшое число последовательностей FtsZL1, однако они встречаются у архей разных классов, таких как *Methanomicrobia*, *Halobacteria* и *Thermococci*. Именно FtsZL1, расщепленный транспозоном, первый представитель суперсемейства FtsZ и тубулина, найденный у *Crenarchaeota*. Также найден нерасщепленный FtsZL1 у другого представителя *Crenarchaeota* — *Acidilobus saccharovorans*. Оба этих белка имеют необычные дополнительные длинные участки N-концевого, ГТФ-связывающего домена, вероятно, он предназначен для каких-либо дополнительных неизвестных функций. Структурная организация доменов у FtsZL1 в целом является нестандартной для белков-гомологов тубулина, так как в нем ГТФазный домен и С-концевой домен, которые вовлечены в полимеризацию, заменены другим, более крупным доменом с неизвестной структурой и функциями (Makarova, Koonin, 2010). Таким образом, способность полимеризоваться и осуществлять гидролиз ГТФ у FtsZL1 остается под вопросом. Ввиду консервативности соседних участков в геноме вокруг гена *ftsZL1* у разных видов, можно сделать предположение, что он вовлечен в процессы ремоделирования мембраны вместе со связанными белками.

Белки семейства CetZ

Среди геномов архей распространены дополнительные гены, относящиеся к суперсемейству FtsZ и тубулина (Duggin et al., 2015). В частности, данное явление встречается у галоархей, которые обитают в гиперсоленых экосистемах по всему миру и характеризуются разнообразием форм (Takashina et al., 1990; Burns et al., 2007), полученных на таком модельном организме как *H. volcanii*. Данный вид архей был выделен из Мертвого моря, он обладает высокой толерантностью к хлориду магния; оптимальная концентрация хлорида натрия, требуемая для роста, соответствует таковой в Мертвом море (Mullakhanbhai, Larsen, 1975). Самая большая группа белков архей, относящихся к суперсемейству FtsZ и тубулина, но не являющаяся FtsZ или тубулином, это белки CetZ (ранее назывались FtsZ3 (Vaughan et al., 2004) или FtsZ 2 типа). Название CetZ происходит от англ. “Cell-structure-related Euryarchaeota tubulin/FtsZ homolog” — связанный с клеточной структурой эвриархеот гомолог тубулина/FtsZ. Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей показало, что белки семейства CetZ имеют мозаичную структуру: часть аминокислотных остатков соответствует

белку FtsZ, а часть — тубулину. Кристаллическая структура CetZ подтверждает эти данные (Duggin et al., 2015). Разница в аминокислотных остатках между CetZ и FtsZ сконцентрирована вокруг кармана связывания для ГТФ/ГДФ, что может указывать на различия в характере полимеризации данных белков (Brown, Duggin, 2023).

Исследование функций белков CetZ выполнялось на *H. volcanii*, у которой целых 6 открытых рамок считывания для генов, кодирующих гомологи CetZ. Удаление индивидуально каждого из этих генов не приводило к нарушениям в скорости роста или форме клеток (Duggin et al., 2015). Была исследована мутантная форма CetZ1 с точечной мутацией E218A (мутация в петле T7). Аналогичные мутации хорошо охарактеризованы и ведут к нарушению динамических свойств у FtsZ и тубулина, а именно препятствуют ГТФазной активности и диссоциации мономеров. За счет этого формируются длинные стабильные филаменты, нарушающие функции гомологов тубулина (Richards et al., 2000; Scheffers et al., 2002). Мутантная форма CetZ1 не приводит к нарушениям в процессе деления *H. volcanii*, в отличие от аналогичного мутанта FtsZ. Однако CetZ1 E218A ведет к нарушению подвижности архей. Они не образуют гало вокруг колонии при посеве на мягкий агар, также в популяции отсутствуют палочковидные клетки. Таким образом, CetZ1, по-видимому, отвечает за формирование палочковидных клеток, которые обладают подвижностью (Duggin et al., 2015). Для визуализации CetZ1 использовался зеленый флуоресцентный белок (GFP). Во время середины логарифмической фазы, когда клетки имели круглую форму, CetZ1 был локализован в виде точек, патчей и коротких филаментов разной интенсивности вблизи или в области оболочки клетки, особенно в участках с высокой кривизной (по краям клетки), а также в середине клетки и в области бороздки деления. В подвижных клетках CetZ1 локализуется в области одного или двух полюсов в виде точек, коротких филаментов и фокусов на самом конце клетки. В некоторых случаях он также локализовался посередине клетки. Интересно, что CetZ1::GFP так же, как и слитый с GFP FtsZ (Moore et al., 2017), не является полностью функциональным. Механизм контроля клеточной формы и подвижности под действием CetZ1 остается не до конца изученным и является важной задачей для будущих исследований.

CetZ2 консервативен среди многих видов архей и представляет собой отдельную от CetZ1 группу ортологов. Это указывает на то, что данные белки играют отдельную роль. Однако удаление гена *cetZ2* из генома *H. volcanii* не приводило к значимым изменениям в подвижности или форме клеток, в отличие от аналогичных экспериментов с CetZ1 (Duggin et al., 2015). При этом сверхэкспрессия

CetZ2, мутантного по ГТФазе, приводила к ингибированию формирования палочкообразных клеток, что обычно влекло за собой изменение подвижности. Таким образом, данный белок также вовлечен в контроль за формой клеток и их подвижностью. CetZ2 есть только у архей, у которых присутствует CetZ1, что говорит о том, что CetZ2 может быть функционально зависим от CetZ1 (Brown, Duggin, 2023). Данные белки находятся в регионах, консервативных среди архей. Функции этих генов могут указывать на пути, в которые может быть вовлечен CetZ. Возле *cetZ* расположены гены, отвечающие за метаболизм коферментов, сахаров и нуклеотидов. Таким образом, CetZ может участвовать в стабилизации и локализации некоторых метаболических путей. В локусе *cetZ2* соседние гены отвечают за способность клетки к подвижности и адгезии, а также за биосинтез мембраны и клеточной стенки. Также в этом регионе у большинства архей находятся несколько систем, связанных с пиллями 4 типа. Хотя биологическая роль этого типа систем неизвестна, они обычно собираются в многокомпонентные внеклеточные комплексы, которые образуют филаменты, встроенные в клеточную оболочку, и отвечают за подвижность и способность к адгезии. В целом, регионы, связанные с пиллями, обычно включают в себя 5–6 внеклеточных субъединиц филаментов и двух предсказанных белков оболочки. Возможно, по аналогии с FtsZ, белки CetZ2 могут действовать как каркас для сборки системы пилей 4 типа у некоторых архей.

Белки CetZ из *Thermococcales* образуют филогенетически когерентный кластер (Brown, Duggin, 2023). В отличие от класса *Halobacteria*, у *Thermococcales* имеется только один CetZ. Интересно также, что регион *cetZ* у данных видов архей содержит гены с хорошо предсказанными свойствами, которые характерны как для CetZ1, так и для CetZ2. По всей видимости, это свидетельствует о наличии дивергенции и последующей специализации белков CetZ. Порядки *Archaeoglobales* и *Methanomicrobiales* имеют один CetZ похожий на CetZ *Halobacteria*, а второй — на *Thermococcales*. Разница между этими двумя семействами CetZ во многом обусловлена разницей в М-петле, что указывает на важность этого региона для функций белка. Разнообразие в белках CetZ у архей свидетельствует о возможных различных функциях и молекулярных механизмах работы. Кроме того, это показывает эволюционные различия между разными видами архей, которые могут говорить о разных способах адаптации к окружающей среде.

Неканонические гомологи тубулина архей

Асгардархеи (англ. *Asgard* или *Asgardarchaeota*) — это филум архей, представители которых содержат некоторые специфичные для эукариот белки. В геномах этих архей также кодируются

белки-представители суперсемейства FtsZ и тубулина, который, вероятно, занимает промежуточное положение между FtsZ и эукариотическим тубулином. Данный белок был найден у *Odinarchaeota* и получил название OdinTubulin (Akil et al., 2022). Он формирует протофиламенты, схожие с эукариотическими микротрубочками, но при этом собирается в кольцо, похожее на Z-кольцо, формируемое FtsZ. Эволюционное давление на OdinTubulin могла оказывать увеличивающаяся в размерах хромосома, увеличение в размерах самой клетки во время эукариогенеза, что привело к формированию более жесткой структуры в микротрубочках. При полимеризации OdinTubulin образует широкие пучки и филаменты (Akil et al., 2022). При этом характер полимеризации отличается в буферах с разным составом. Для связывания ГТФ белку необходимы ионы магния, а также калия или натрия, при этом гидролиз ГТФ идет медленнее в присутствии натрия или при отсутствии магния. OdinTubulin способен формировать две формы полимеров: пучки прямых протофиламентов и трубочки, которые состоят из изогнутых протофиламентов. Так, прямые пучки формируются до гидролиза ГТФ, а после гидролиза формируются трубочки, что обеспечивает переход к изогнутой морфологии полимеров. Полный геном представителя *Odinarchaeota*—*Candidatus* *Odinarchaeum yellowstonii* LCB_4 был собран из образца, полученного из горячего источника в Йеллоустоуне, температура которого около 70°C (Tamarit et al., 2022). OdinTubulin полимеризуется как при 37°C, так и при 80°C (Akil et al., 2022). Однако при 80°C образуются более однородные и толстые структуры. При 4°C OdinTubulin не формирует трубочки, и наблюдаются незрелые кольца, которые, видимо, являются шаблоном для дальнейшего формирования трубочек. Кроме того, скорость полимеризации увеличивается при возрастании температуры. Высокая температура смещает равновесия для мономеров, которые могут быть связаны как с ГДФ, так и с ГТФ, в сторону тех, которые связаны с ГТФ. Также при высокой температуре увеличивается скорость гидролиза ГТФ и высвобождение фосфата, что, в свою очередь, приводит к искривлению протофиламента и формированию трубочки. Несмотря на изученные свойства данного белка, его точные функции в клетке остаются неизвестными; предполагается, что он может участвовать не только в клеточном делении. Данный гомолог тубулина также очень интересен с эволюционной точки зрения как промежуточное звено между бактериями и эукариотами, поэтому его изучение остается актуальной задачей.

Кроме описанных выше, найден также так называемый *Thaumarchaeota* FtsZ (Aylett, Duggin, 2017), который довольно далек от FtsZ и тубулина. Он образует маленькую группу с белком, найденным у *Korarchaeota* (имеет в геноме и FtsZ),

и, вероятно, не участвует в процессе деления. Возможно, данные белки позже будут переименованы и отнесены в отдельную группу в соответствии с их функциями, которые пока неизвестны. Еще один белок FtsZ/тубулин суперсемейства двух родов из *Thaumarchaeota* получил название Artubulin. Он находится в сестринской группе по отношению к эукариотическому тубулину на филогенетическом дереве. В геноме он находится рядом с генами компонентов ESCRT-III системы, участвующей в клеточном делении, что говорит о его возможном участии в работе данного механизма. Соответственно, Artubulin также может быть кандидатом на роль промежуточной стадии между бактериальным FtsZ и эукариотическим тубулином. Кроме того, существует еще большое количество белков, относящихся к суперсемейству FtsZ и тубулина, которые не охарактеризованы. Их изучение может пролить свет на эволюцию белков цитоскелета.

ГОМОЛОГИ ТУБУЛИНА КАК МИШЕНЬ ДЛЯ АНТИБИОТИКОВ

Быстрый рост антибиотикорезистентности увеличивает потребность в новых антибактериальных препаратах (Han et al., 2021; Alotaibi, 2023). Благодаря жизненной важности белка FtsZ для процесса деления и его широкой распространенности среди прокариот, данный белок считается перспективной мишенью для антибактериальных агентов. Использование FtsZ в качестве мишени считается эффективным подходом для разработки новых антибиотиков, которые нарушают деление бактериальных клеток. За последнее десятилетие было идентифицировано большое количество природных и синтетических ингибиторов FtsZ (Panda et al., 2016; Silber et al., 2020; Pradhan et al., 2021).

Многие молекулы-ингибиторы FtsZ связываются с междоменной щелью данного белка (англ. interdomain cleft, IDC), тогда как другие соединения связываются с сайтом связывания ГТФ. Считается, что последние гораздо менее полезны в качестве потенциальных антимикробных терапевтических средств, поскольку они обычно демонстрируют цитотоксичность для клеток млекопитающих из-за высокого сходства последовательностей между сайтами связывания ГТФ FtsZ и тубулина (Pradhan et al., 2021). Междоменная щель FtsZ имеет гораздо меньшее сходство аминокислотной последовательности и трехмерной структуры с тубулином, что делает ее лучшей потенциальной мишенью для лекарств, так как такие лекарства менее токсичны для человека и животных.

Ингибиторы FtsZ растительного происхождения привлекают как прообраз новых антибиотиков, поскольку они часто менее токсичны для клеток млекопитающих, чем синтетические ингибиторы (Pradhan et al., 2021). Среди ингибиторов

FtsZ природного происхождения наиболее интересными свойствами обладают следующие. Фенилпропаноиды представляют собой группу природных органических соединений, которые синтезируются растениями с использованием фенилаланина и тирозина. Большинство производных фенилпропаноидов обладают антибактериальной активностью и включают коричную кислоту, *n*-кумаровую кислоту, кофейную кислоту, хлорогеновую кислоту, эвгенол и феруловую кислоту. Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) для этих соединений, отражающие их эффективность в отношении бактерий, обычно сравнительно высоки — порядка 100 мкг/мл (Nemaiswarya et al., 2011).

Сангвинарин представляет собой алкалоид, полученный из корневищ *Sanguinaria canadensis* (сангвинария канадская), обладающей широким спектром противомикробной активности. Сайт связывания сангвинарина с белком FtsZ пока не установлен, хотя его производные связываются с междоменной щелью (Casiraghi et al., 2020). И у *E. coli*, и у *B. subtilis* данный ингибитор вызывает филаментацию клеток вследствие нарушения деления клеток, что объясняется нарушением функции FtsZ. Однако он также ингибирует полимеризацию тубулина в микротрубочки и поэтому токсичен для клеток млекопитающих. На основе сангвинарина создано несколько ингибиторов FtsZ со сниженной токсичностью для клеток млекопитающих; некоторые из них демонстрируют МИК на уровне 0.1–5 мкг/мл.

Берберин — это растительный алкалоид, имеющийся во многих видах барбариса. Берберин веками использовался в качестве противомикробного терапевтического средства. Известно, что берберин ингибирует сборку FtsZ *E. coli* и его ГТФазную активность в условиях *in vitro*. На основе берберина синтезированы аналоги, связывающиеся с междоменной щелью FtsZ. Величина МИК для производных берберина составляет около 2–16 мкг/мл в отношении различных видов грамположительных бактерий. Кроме того, аналоги берберина предотвращают рост грамотрицательных микроорганизмов, таких как *Klebsiella pneumoniae* и *E. coli*, при значениях МИК в пределах 32–128 мкг/мл (Di Somma et al., 2023).

Куркумин — это натуральное соединение, полученное из куркумы. На протяжении веков он известен как краситель и ароматизатор в Индии и Южной Азии, а также используется в традиционной медицине. Куркумин проявляет некоторые биологические свойства, такие как противораковое, антиоксидантное и антибактериальное действие. Было показано, что куркумин связывается с тубулином и обладает антипролиферативной активностью, разрушая микротрубочки. Наряду с тубулином, куркумин взаимодействует с FtsZ, стимулируя его ГТФазную активность.

Среди синтетических ингибиторов FtsZ одним из наиболее известных является представитель бензамидов PC190723, который связывается с междоменной щелью FtsZ (Haydon et al., 2008). PC190723 наиболее эффективен против грамположительных бактерий, которые имеют валин в положении, эквивалентном 307-й аминокислоте в FtsZ *E. coli*, таких как *S. aureus* и *B. subtilis*. Напротив, PC190723 неэффективен в отношении *E. coli*, хотя инактивация эффлюксной помпы AcrAB *E. coli* значительно повышает чувствительность к PC190723, что позволяет предположить, что устойчивость грамотрицательных бактерий к этому соединению, по крайней мере частично, объясняется быстрым выведением данного вещества из цитоплазмы. На основе PC190723 создано несколько производных веществ, обладающих улучшенными свойствами (Kaul et al., 2015).

Наряду с бензамидами, среди синтетических ингибиторов FtsZ представляют интерес пиримидиновые ингибиторы (Chan et al., 2013), зантрины (Sogawa et al., 2020), а также ингибиторы пептидной природы (Han et al., 2021) (впрочем, среди последних имеется несколько ингибиторов природного происхождения).

Для других прокариотических гомологов тубулина, таких как CetZ, TubZ и других, включая архейные FtsZ, нам не удалось найти описанных в литературе ингибиторов. Тем не менее разработка таких ингибиторов представляется востребованной, так как она может помочь контролировать бактериальные инфекции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной обзорной работе рассмотрены основные гомологи тубулина, имеющиеся у прокариот. На настоящий момент обнаружено большое разнообразие этих гомологов, которые вовлечены в различные процессы. Наиболее изученным является белок FtsZ, который имеется у большинства бактерий и архей и вовлечен в ключевой для любой клетки процесс деления. Однако даже в случае FtsZ имеются значительные пробелы в наших знаниях о его свойствах, например, неизвестна точная структура Z-кольца, кроме того, не до конца понятно, как распределяются функции гомологов FtsZ у архей, в которых FtsZ обычно присутствует в двух экземплярах. Свойства других гомологов тубулина бактерий и архей изучены намного хуже; для многих из них неизвестны их точные функции, как, например, для бактериальных тубулинов BtubA/BtubB, роль которых в клетке остается загадкой.

Общим свойством для всех гомологов тубулина является их способность к связыванию и гидролизу ГТФ, а также к полимеризации. При этом различные гомологи тубулина формируют различные структуры в клетке, начиная от одиночных

филаментов и пучков в случае FtsZ и заканчивая бактериальными микротрубочками, формируемыми BtubA/BtubB.

Кроме клеточного деления, гомологи тубулина бактерий и архей вовлечены в различные клеточные процессы, такие как поддержание положения ДНК в клетке в случае TubZ и PhuZ, регуляция морфологии клетки в случае CetZ. Вероятно, в будущем будут открыты и другие роли гомологов тубулина. Для этого требуется их дальнейшее изучение.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы работы выражают благодарность коллективу НИК “Нанобиотехнологии” СПбПУ за комфортную творческую среду.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа поддержана грантом РНФ (проект № 22-24-00085).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Addinall S. G., Bi E., Lutkenhaus J. FtsZ ring formation in fts mutants // J. Bacteriol. 1996. V. 178. P. 3877–3884.
- Akil C., Ali S., Tran L. T., Gaillard J., Li W., Hayashida K., Hirose M., Kato T., Oshima A., Fujishima K., Blanchoin L., Narita A., Robinson R. C. Structure and dynamics of Odi-narchaeota tubulin and the implications for eukaryotic microtubule evolution // Sci. Adv. 2022. V. 8. Art. eabm2225.
- Alotaibi B. S. Targeting Filamenting temperature-sensitive mutant Z (FtsZ) with bioactive phytoconstituents: An emerging strategy for antibacterial therapy // PLoS One. 2023. V. 18. Art. e0290852.
- Andreu J. M., Oliva M. A. Purification and assembly of bacterial tubulin BtubA/B and constructs bearing eukaryotic tubulin sequences // Methods Cell Biol. 2013. V. 115. P. 269–281.
- Attaibi M., den Blaauwen T. An updated model of the divisome: regulation of the septal peptidoglycan synthesis machinery by the divisome // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23. Art. 3537.
- Aylett C. H.S., Duggin I. G. The tubulin superfamily in Archaea // Subcell. Biochim. 2017. V. 84. P. 393–417.

- Baumann P., Jackson S. P. An archaeobacterial homologue of the essential eubacterial cell division protein FtsZ // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 6726–6730.
- Bi E. F., Lutkenhaus J. FtsZ ring structure associated with division in *Escherichia coli* // Nature. 1991. V. 354. P. 161–164.
- Binarová P., Tuszyński J. Tubulin: structure, functions and roles in disease // Cells. 2019. V. 8. Art. 1294.
- Birkholz E. A., Laughlin T. G., Armbruster E., Suslov S., Lee J., Wittmann J., Corbett K. D., Villa E., Pogliano J. A cytoskeletal vortex drives phage nucleus rotation during jumbo phage replication in *E. coli* // Cell. Rep. 2022. V. 40. Art. 111179.
- Bisson-Filho A. W., Hsu Y. P., Squyres G. R., Kuru E., Wu F., Jukes C., Sun Y., Dekker C., Holden S., VanNieuwenhze M. S., Brun Y. V., Garner E. C. Treadmilling by FtsZ filaments drives peptidoglycan synthesis and bacterial cell division // Science. 2017. V. 355. P. 739–743.
- Bramhill D., Thompson C. M. GTP-dependent polymerization of *Escherichia coli* FtsZ protein to form tubules // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994. V. 91. P. 5813–5817.
- Brown H. J., Duggin I. G. Diversity and potential multifunctionality of archaeal CetZ tubulin-like cytoskeletal proteins // Biomolecules. 2023. V. 13. Art. 134.
- Burns D. G., Janssen P. H., Itoh T., Kamekura M., Li Z., Jensen G., Rodríguez-Valera F., Bolhuis H., Dyall-Smith M. L. *Haloquadratum walsbyi* gen. nov., sp. nov., the square haloarchaeon of Walsby, isolated from saltern crystallizers in Australia and Spain // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2007. V. 57. P. 387–392.
- Busiek K. K., Margolin W. Bacterial actin and tubulin homologs in cell growth and division // Curr. Biol. 2015. V. 25. P. R243–R254.
- Cabeen M. T., Jacobs-Wagner C. The bacterial cytoskeleton // Annu. Rev. Genet. 2010. V. 44. P. 365–392.
- Casiraghi A., Suigo L., Valoti E., Straniero V. Targeting bacterial cell division: a binding site-centered approach to the most promising inhibitors of the essential protein FtsZ // Antibiotics (Basel). 2020. V. 9. Art. 69.
- Caspi Y., Dekker C. Dividing the archaeal way: the ancient Cdv cell-division machinery // Front. Microbiol. 2018. V. 9. Art. 174.
- Chaaban S., Brouhard G. J. A microtubule bestiary: structural diversity in tubulin polymers // Mol. Biol. Cell. 2017. V. 28. P. 2924–2931.
- Chaikeeratisak V., Birkholz E. A., Pogliano J. The phage nucleus and PhuZ spindle: defining features of the subcellular organization and speciation of nucleus-forming jumbo phages // Front. Microbiol. 2021. V. 12. Art. 641317.
- Chan F. Y., Sun N., Neves M. A., Lam P. C., Chung W. H., Wong L. K., Chow H. Y., Ma D. L., Chan P. H., Leung Y. C., Chan T. H., Abagyan R., Wong K. Y. Identification of a new class of FtsZ inhibitors by structure-based design and *in vitro* screening // J. Chem. Inf. Model. 2013. V. 53. P. 2131–2140.
- Cheng Z., Lu X., Feng B. A review of research progress of antitumor drugs based on tubulin targets // Transl. Cancer Res. 2020. V. 9. P. 4020–4027.
- Chrétien D., Metoz F., Verde F., Karsenti E., Wade R. H. Lattice defects in microtubules: protofilament numbers vary within individual microtubules // J. Cell. Biol. 1992. V. 117. P. 1031–1040.
- Corbin L. C., Erickson H. P. A unified model for treadmilling and nucleation of single-stranded FtsZ protofilaments // Biophys. J. 2020. V. 119. P. 792–805.
- de Boer P., Crossley R., Rothfield L. The essential bacterial cell-division protein FtsZ is a GTPase // Nature. 1992. V. 359. P. 254–256.
- de Boer P. A. Classic spotlight: discovery of *ftsZ* // J. Bacteriol. 2016. V. 198. P. 1184.
- Di Somma A., Canè C., Rotondo N. P., Cavalluzzi M. M., Lentini G., Duilio A. A comparative study of the inhibitory action of berberine derivatives on the recombinant protein FtsZ of *E. coli* // Int. J. Mol. Sci. 2023. V. 24. Art. e00211.
- Díaz-Celis C., Risca V. I., Hurtado F., Polka J. K., Hansen S. D., Maturana D., Lagos R., Mullins R. D., Monasterio O. Bacterial tubulins A and B exhibit polarized growth, mixed-polarity bundling, and destabilization by GTP hydrolysis // J. Bacteriol. 2017. V. 199. Art. e00211.
- Du S., Lutkenhaus J. Assembly and activation of the *Escherichia coli* divisome // Mol. Microbiol. 2017. V. 105. P. 177–187.
- Du S., Lutkenhaus J. At the heart of bacterial cytokinesis: the Z ring // Trends Microbiol. 2019. V. 27. P. 781–791.
- Du S., Pichoff S., Kruse K., Lutkenhaus J. FtsZ filaments have the opposite kinetic polarity of microtubules // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2018. V. 115. P. 10768–10773.
- Duggin I. G., Aylett C. H. S., Walsh J. C., Michie K. A., Wang Q., Turnbull L., Dawson E. M., Harry E. J., Whitchurch C. B., Amos L. A., Löwe J. CetZ tubulin-like proteins control archaeal cell shape // Nature. 2015. V. 519. P. 362–365.
- Erickson H. P., Anderson D. E., Osawa M. FtsZ in bacterial cytokinesis: cytoskeleton and force generator all in one // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2010. V. 74. P. 504–528.
- Findeisen P., Mühlhausen S., Dempewolf S., Hertzog J., Zietlow A., Carlomagno T., Kollmar M. Six subgroups and extensive recent duplications characterize the evolution of the eukaryotic tubulin protein family // Genome Biol. Evol. 2014. V. 6. P. 2274–2288.
- Fink G., Aylett C. H. S. Tubulin-like proteins in prokaryotic DNA positioning // Subcell. Biochem. 2017. V. 84. P. 323–356.
- Fu G., Huang T., Buss J., Coltharp C., Hensel Z., Xiao J. *In vivo* structure of the *E. coli* FtsZ-ring revealed by photo-activated localization microscopy (PALM) // PLoS One. 2010. V. 5. Art. e12682.
- Fuentes-Pérez M. E., Núñez-Ramírez R., Martín-González A., Juan-Rodríguez D., Llorca O., Moreno-Herrero F., Oliva M. A. TubZ filament assembly dynamics requires the flexible C-terminal tail // Sci. Rep. 2017. V. 7. Art. 43342.

- Guan J., Bondy-Denomy J. Intracellular organization by jumbo bacteriophages // J. Bacteriol. 2020. V. 203. Art. e00362.
- Gudimchuk N. B., Alexandrova V. V. Measuring and modeling forces generated by microtubules // Biophys. Revs. 2023. V. 15. Art. 1095.
- Haeusser D. P., Margolin W. Splitsville: structural and functional insights into the dynamic bacterial Z ring // Nat. Rev. Microbiol. 2016. V. 14. P. 305–319.
- Han H., Wang Z., Li T., Teng D., Mao R., Hao Y., Yang N., Wang X., Wang J. Recent progress of bacterial FtsZ inhibitors with a focus on peptides // FEBS J. 2021. V. 288. P. 1091–1106.
- Harry E. J., Pogliano K., Losick R. Use of immunofluorescence to visualize cell-specific gene expression during sporulation in *Bacillus subtilis* // J. Bacteriol. 1995. V. 177. P. 3386–3393.
- Haydon D. J., Stokes N. R., Ure R., Galbraith G., Bennett J. M., Brown D. R., Baker P. J., Barynin V. V., Rice D. W., Sedelnikova S. E., Heal J. R., Sheridan J. M., Aiwale S. T., Chauhan P. K., Srivastava A., et al. An inhibitor of FtsZ with potent and selective anti-staphylococcal activity // Science. 2008. V. 321. P. 1673–1675.
- Hemaiswarya S., Soudaminikkutty R., Narasumani M. L., Doble M. Phenylpropanoids inhibit protofilament formation of *Escherichia coli* cell division protein FtsZ // J. Med. Microbiol. 2011. V. 60. P. 1317–1325.
- Holden S. J., Pengo T., Meibom K. L., Fernandez Fernandez C., Collier J., Manley S. High throughput 3D super-resolution microscopy reveals *Caulobacter crescentus* in vivo Z-ring organization // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014. V. 111. P. 4566–4571.
- Hong W., Deng W., Xie J. The structure, function, and regulation of *Mycobacterium* FtsZ // Cell Biochem. Biophys. 2013. V. 65. P. 97–105.
- Hoshino S., Hayashi I. Filament formation of the FtsZ/tubulin-like protein TubZ from the *Bacillus cereus* pXO1 plasmid // J. Biol. Chem. 2012. V. 287. P. 32103–32112.
- Janke C., Magiera M. M. The tubulin code and its role in controlling microtubule properties and functions // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2020. V. 21. P. 307–326.
- Jenkins C., Samudrala R., Anderson I., Hedlund B. P., Petroni G., Michailova N., Pinel N., Overbeek R., Rosati G., Staley J. T. Genes for the cytoskeletal protein tubulin in the bacterial genus *Prostheco bacter* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. P. 17049–17054.
- Kattan J., Doerr A., Dogterom M., Danelon C. Shaping liposomes by cell-free expressed bacterial microtubules // ACS Synth. Biol. 2021. V. 10. P. 2447–2455.
- Kaul M., Mark L., Zhang Y., Parhi A. K., Lyu Y. L., Pawlak J., Saravolatz S., Saravolatz L. D., Weinstein M. P., LaVoie E. J., Pilch D. S. TXA709, an FtsZ-targeting benzamide prodrug with improved pharmacokinetics and enhanced in vivo efficacy against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // Antimicrob. Agents Chemother. 2015. V. 59. P. 4845–4855.
- Kiefel B. R., Gilson P. R., Beech P. L. Diverse eukaryotes have retained mitochondrial homologues of the bacterial division protein FtsZ // Protist. 2004. V. 155. P. 105–115.
- Kim K. W. Prokaryotic cytoskeletons: *in situ* and *ex situ* structures and cellular locations // Antonie van Leeuwenhoek. 2019. V. 112. P. 145–157.
- Larsen R. A., Cusumano C., Fujioka A., Lim-Fong G., Patterson P., Pogliano J. Treadmilling of a prokaryotic tubulin-like protein, TubZ, required for plasmid stability in *Bacillus thuringiensis* // Genes Dev. 2007. V. 21. P. 1340–1352.
- Li Z., Trimble M. J., Brun Y. V., Jensen G. J. The structure of FtsZ filaments *in vivo* suggests a force-generating role in cell division // EMBO J. 2007. V. 26. P. 4694–4708.
- Löwe J. Crystal structure determination of FtsZ from *Methanococcus jannaschii* // J. Struct. Biol. 1998. V. 124. P. 235–243.
- Mahone C. R., Goley E. D. Bacterial cell division at a glance // J. Cell. Sci. 2020. V. 133. Art. jcs237057.
- Makarova K. S., Koonin E. V. Two new families of the FtsZ-tubulin protein superfamily implicated in membrane remodeling in diverse bacteria and archaea // Biology Direct. 2010. V. 5. Art. 33.
- Margolis R. L., Wilson L. Microtubule treadmilling: what goes around comes around // Bioessays. 1998. V. 20. P. 830–836.
- Martin-Galiano A. J., Oliva M. A., Sanz L., Bhattacharyya A., Serna M., Yébenes H., Valpuesta J. M., Andreu J. M. Bacterial tubulin distinct loop sequences and primitive assembly properties support its origin from a eukaryotic tubulin ancestor // J. Biol. Chem. 2011. V. 286. P. 19789–19803.
- McCausland J. W., Yang X., Squyres G. R., Lyu Z., Bruce K. E., Lamanna M. M., Soderstrom B., Garner E. C., Winkler M. E., Xiao J., Liu J. Treadmilling FtsZ polymers drive the directional movement of sPG-synthesis enzymes via a Brownian ratchet mechanism // Nat. Commun. 2021. V. 12. Art. 609.
- McQuillen R., Xiao J. Insights into the structure, function, and dynamics of the bacterial cytokinetic FtsZ-ring // Annu. Rev. Biophys. 2020. V. 49. P. 309–341.
- Mishra D., Srinivasan R. Catching a Walker in the act — DNA partitioning by ParA family of proteins // Front. Microbiol. 2022. V. 13. Art. 856547.
- Moore D. A., Whatley Z. N., Joshi C. P., Osawa M., Erickson H. P. Probing for binding regions of the FtsZ protein surface through site-directed insertions: discovery of fully functional FtsZ-fluorescent proteins // J. Bacteriol. 2017. V. 199. Art. e00553.
- Mullakhanbhai M. F., Larsen H. *Halobacterium volcanii* spec. nov., a Dead Sea halobacterium with a moderate salt requirement // Arch. Microbiol. 1975. V. 104. P. 207–214.
- Müller F. D., Raschdorf O., Nudelman H., Messerer M., Katzmann E., Plitzko J. M., Zarivach R., Schüler D. The FtsZ-like protein FtsZm of *Magnetospirillum gryphiswaldense* likely interacts with its generic homolog and

- is required for biomineralization under nitrate deprivation // *J. Bacteriol.* 2014. V. 196. P. 650–659.
- Ni L., Xu W., Kumaraswami M., Schumacher M. A. Plasmid protein TubR uses a distinct mode of HTH-DNA binding and recruits the prokaryotic tubulin homolog TubZ to effect DNA partition // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. P. 11763–11768.
- Oliva M. A., Cordell S. C., Löwe J. Structural insights into FtsZ protofilament formation // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2004. V. 11. P. 1243–1250.
- Oliva M. A., Martin-Galiano A.J., Sakaguchi Y., Andreu J. M. Tubulin homolog TubZ in a phage-encoded partition system // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012. V. 109. P. 7711–7716.
- Osawa M., Erickson H. P. Turgor pressure and possible constriction mechanisms in bacterial division // *Front. Microbiol.* 2018. V. 9. Art. 111.
- Ouellette S. P., Lee J., Cox J. V. Division without binary fission: cell division in the FtsZ-less *Chlamydia* // *J. Bacteriol.* 2020. V. 202. Art. e00252–20.
- Panda D., Bhattacharya D., Gao Q. H., Oza P. M., Lin H. Y., Hawkins B., Hibbs D. E., Groundwater P. W. Identification of agents targeting FtsZ assembly // *Future Med. Chem.* 2016. V. 8. P. 1111–1132.
- Pilhofer M., Ladinsky M. S., McDowell A.W., Petroni G., Jensen G. J. Microtubules in bacteria: ancient tubulins build a five-protofilament homolog of the eukaryotic cytoskeleton // *PLoS Biol.* 2011. V. 9. Art. e1001213.
- Pradhan P., Margolin W., Beuria T. K. Targeting the Achilles heel of FtsZ: the interdomain cleft // *Front. Microbiol.* 2021. V. 12. Art. 732796.
- Prichard A., Lee J., Laughlin T. G., Lee A., Thomas K. P., Sy A., Spencer T., Asavavimol A., Caffèrta A., Cameron M., Chiu N., Davydov D., Desai I., Diaz G., Guereca M., et al. Identifying the core genome of the nucleus-forming bacteriophage family and characterization of *Erwinia* phage RAY // *Cell. Rep.* 2023. V. 42. Art. 112432.
- Richards K. L., Anders K. R., Nogales E., Schwartz K., Downing K. H., Botstein D. Structure-function relationships in yeast tubulins // *Mol. Biol. Cell.* 2000. V. 11. P. 1887–1903.
- Santana-Molina C., Del Sáiz-Navarro D., Devos D. P. Early origin and evolution of the FtsZ/tubulin protein family // *Front. Microbiol.* 2022. V. 13. Art. 1100249.
- Scheffers D. J., de Wit J. G., den Blaauwen T., Driessen A. J. GTP hydrolysis of cell division protein FtsZ: evidence that the active site is formed by the association of monomers // *Biochemistry.* 2002. V. 41. P. 521–529.
- Schlieper D., Oliva M. A., Andreu J. M., Löwe J. Structure of bacterial tubulin BtubA/B: evidence for horizontal gene transfer // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. V. 102. P. 9170–9175.
- Silber N., Opitz C. L.M. d., Mayer C., Sass P. Cell division protein FtsZ: from structure and mechanism to antibiotic target // *Future Microbiol.* 2020. V. 15. P. 801–831.
- Soderstrom B., Skoog K., Blom H., Weiss D. S., von Heijne G., Daley D. O. Disassembly of the divisome in *Escherichia coli*: evidence that FtsZ dissociates before compartmentalization // *Mol. Microbiol.* 2014. V. 92. P. 1–9.
- Sogawa H., Sato R., Suzuki K., Tomioka S., Shinzato T., Karpov P., Shulga S., Blume Y., Kurita N. Binding sites of Zantrin inhibitors to the bacterial cell division protein FtsZ: molecular docking and ab initio molecular orbital calculations // *Chem. Physics.* 2020. V. 530. Art. 110603.
- Szwedziak P., Wang Q., Bharat T. A., Tsim M., Lowe J. Architecture of the ring formed by the tubulin homologue FtsZ in bacterial cell division // *Elife.* 2014. V. 3. Art. e04601.
- Takashina T., Hamamoto T., Otozai K., Grant W. D., Horikoshi K. *Haloarcula japonica* sp. nov., a new triangular halophilic archaeobacterium // *Syst. Appl. Microbiol.* 1990. V. 13. P. 177–181.
- Tamarit D., Cáceres E. F., Krupovic M., Nijland R., Eme L., Robinson N. P., Ettema T. J. G. A closed *Candidatus Odinarchaeum* chromosome exposes Asgard archaeal viruses // *Nat. Microbiol.* 2022. V. 7. P. 948–952.
- TerBush A.D., Yoshida Y., Osteryoung K. W. FtsZ in chloroplast division: structure, function and evolution // *Curr. Opin. Cell. Biol.* 2013. V. 25. P. 461–470.
- Toro-Nahuelpan M., Corrales-Guerrero L., Zwiener T., Osorio-Valeriano M., Müller F.-D., Plitzko J. M., Bramkamp M., Thanbichler M., Schüler D. A gradient-forming MipZ protein mediating the control of cell division in the magnetotactic bacterium *Magnetospirillum gryphiswaldense* // *Mol. Microbiol.* 2019. V. 112. P. 1423–1439.
- Van De Putte P., Van D., Roersch A. The selection of mutants of *Escherichia coli* with impaired cell division at elevated temperature // *Mutat. Res.* 1964. V. 1. P. 121–128.
- Vaughan S., Wickstead B., Gull K., Addinall S. G. Molecular evolution of FtsZ protein sequences encoded within the genomes of Archaea, Bacteria, and Eukaryota // *J. Mol. Evol.* 2004. V. 58. P. 19–29.
- Vedyaykin A. D., Ponomareva E. V., Khodorkovskii M. A., Borchsenius S. N., Vishnyakov I. E. Mechanisms of bacterial cell division // *Microbiology (Moscow).* 2019. V. 88. P. 245–260.
- Vedyaykin A. D., Vishnyakov I. E., Polinovskaya V. S., Khodorkovskii M. A., Sabantsev A. V. New insights into FtsZ rearrangements during the cell division of *Escherichia coli* from single-molecule localization microscopy of fixed cells // *Microbiologyopen.* 2016. V. 5. P. 378–386.
- Walker R. A., O'Brien E.T., Pryer N. K., Soboeiro M. F., Voter W. A., Erickson H. P., Salmon E. D. Dynamic instability of individual microtubules analyzed by video light microscopy: rate constants and transition frequencies // *J. Cell. Biol.* 1988. V. 107. P. 1437–1448.
- Weisenberg R. C. Microtubule formation *in vitro* in solutions containing low calcium concentrations // *Science.* 1972. V. 177. P. 1104–1105.
- Whitley K. D., Jukes C., Tregidgo N., Karinou E., Almada P., Cesbron Y., Henriques R., Dekker C., Holden S. FtsZ treadmilling is essential for Z-ring condensation and septal

- constriction initiation in *Bacillus subtilis* cell division // Nat. Commun. 2021. V. 12. Art. 2448.
- Xie W., Xu D., Chen F., Wang Z., Luo J., He Y., Zheng Q., Liu C. Integrated cytological, physiological, and transcriptome analyses provide insight into the albino phenotype of chinese plum (*Prunus salicina*) // Int. J. Mol. Sci. 2023. V. 24. Art. 14457.
- Yao Q., Jewett A. I., Chang Y. W., Oikonomou C. M., Beeby M., Iancu C. V., Briegel A., Ghosal D., Jensen G. J. Short FtsZ filaments can drive asymmetric cell envelope constriction at the onset of bacterial cytokinesis // EMBO J. 2017. V. 36. P. 1577–1589.
- Zehr E. A., Kraemer J. A., Erb M. L., Coker J. K., Montabana E. A., Pogliano J., Agard D. A. The structure and assembly mechanism of a novel three-stranded tubulin filament that centers phage DNA // Structure. 2014. V. 22. P. 539–548.

Tubulin Homologs in Bacteria and Archaea

N. A. Rumyantseva¹, D. M. Golofeeva¹, A. A. Khasanova¹, and A. D. Vedyaykin^{1, *}

¹Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, 195251, Russia

*e-mail: vedyajkin_ad@spbstu.ru

Received October 25, 2023; revised November 28, 2023; accepted December 5, 2023

Abstract—While cytoskeletal proteins have long been considered to be present only in eukaryotes, but not in prokaryotes, homologs of the major cytoskeletal proteins, including tubulin, have been discovered in bacteria and archaea in the last 30 years. The properties of tubulin homologs, as well as of the cytoskeleton-like structures they form in prokaryotic cells, vary and differ significantly from the relevant properties of eukaryotic tubulins. The comparison of prokaryotic tubulin homologs with each other seems therefore to be an interesting task and thus is the goal of the current review. We consider such tubulin homologs found in bacteria and archaea as FtsZ, TubZ, PhuZ, BtubA/BtubB, CetZ, etc. The ability of various tubulin homologs to act as targets for pharmaceuticals, similar to the FtsZ protein, which is already a target for promising antibiotics, is also discussed.

Keywords: FtsZ, tubulin, CetZ, TubZ, PhuZ, BtubA, BtubB, cytoskeleton